

10. 室内空気におけるフェノール系内分泌かく乱物質の汚染実態の解明

○ 富 太一¹、西 以和貴¹、田原 麻衣子²、仲野 富美¹、上村 仁¹、酒井 信夫²

(¹神奈川県衛生研究所、²国立医薬品食品衛生研究所)

【研究目的】

フェノール系内分泌かく乱物質(PEDC)は、以前、我が国において環境ホルモンの名称で注目を集めた化合物群である。PEDC がもたらす人への影響は脳や生殖機能などに及び、その影響は子供や妊婦が中心とされる。これまでにPEDCの調査は、主に食品や河川水等で行われてきたが、室内環境中の存在については、調査が立ち遅れている。本研究は室内空気中のPEDCに着目し、GC-MS/MSによる分析系の確立と汚染実態の解明を目的とした。

【研究の必要性】

PEDCは、今から20年以上前に環境ホルモンの名称で大きく報道され、生物のメス化作用が注目を集めた。しかし、実際の女性ホルモンに比べて非常に弱い作用しか持たないという理由から、その影響はほとんど無いものとされてきた。ところが、近年、PEDCの曝露によって、微量でも脳や甲状腺、生殖機能などに影響を及ぼすことが徐々に分かってきた。PEDCに起因した様々な疾病を考慮すれば、我が国における汚染実態の把握は急務である。PEDCの代表的な化合物であるアルキルフェノール類(APs)、ビスフェノール類(BPs)は、家電製品、接着剤、界面活性剤など我々の身近に存在しており、近年では、新規の類縁物質が報告されている。これまでにPEDCの調査は食品、河川水など様々なケースで行われてきたが^{1), 2)}、我々が生活の大半を過ごす室内空気中の存在については、実態調査がほとんどなされていない。したがって、室内空気における実態把握と、吸入曝露量の推定は不可欠と考えられる。

【研究計画】

1. GC-MS/MSを利用した室内空気におけるAPs, BPs一斉分析法の検討

本研究では、GC-MS/MSを利用したAPsとBPsの類縁物質を含めた一斉分析法を最初に検討する。また、室内空気におけるAPs及びBPsの捕集法は斎藤らの先行研究に基づいて行う³⁾。具体的には、石英フィルター(2500QAT-UP 47 mm, 東京ダイレック製)とC18フィルター(Empore DISK C18 FF 2215, 47 mm, CDS Analytical 社製)を2枚重ね、空気中の粒子状物質と気体状物質の同時捕集を行い、添加回収試験から各種分析性能を評価する。

2. 室内空気におけるAPs, BPsの実態調査と吸入曝露量の推定

実態調査は戸建やマンションなどの一般住宅で実施する。室内空気の実態調査は、申請者が参加する厚労科研の研究班(室内空気環境汚染化学物質の標準試験法の策定およびリスク低減化に関する研究)の手法を取り入れる。この研究班は空気中有害物質の標準試験法の策定を目的としており、捕集法の規格化も行っている。例えば、空気の捕集時間、吸引流量、人の呼吸位置に合わせた捕集などがある。本手法で得られたデータを用いて、吸入曝露量を算出する。

【実施内容】

1. GC-MS/MS を利用した室内空気における APs, BPs 一斉分析法の検討

本研究の分析対象は APs (8 種) 及び BPs (15 種) とし、23 成分混合標準品を N,O-ビス(トリメチルシリル)トリフルオロアセトアミド(BSTFA)にて TMS 化した。GC-MS/MS 分析条件を表 1 に示した。定量下限値及び検出下限値は、検量線の下限付近の濃度の標準品を調製し、n=6 で繰り返し分析を行い、得られた濃度の標準偏差の 10 σ (定量下限値) と 3 σ (検出下限値) から算出した。室内空気の捕集法は斎藤らの報告を一部改変した³⁾。各フィルターの前処理として、石英フィルターは 450°C で 5 時間加熱し、C18 フィルターはアセトンで 15 分超音波洗浄後、新たなアセトンに 24 時間浸漬させたものを用いた。捕集時のフィルターは石英及び C18 フィルターを 2 枚重ねてホルダー(ジーエルサイエンス製)にセットした(以下、フィルターを 2 枚重ねてセットした物をホルダーとする)。添加回収試験は、空気由来の妨害成分を防

表1 GC-MS/MS分析条件

Instrument		
Gas Chromatograph	Agilent Technologies 8890	
Column	DB-5MS UI 30 m x 0.25 mm, i.d., 0.25 μ m	
Oven temperature	60°C(2 min)-10°C/min-320°C(8 min)	
Carrier gases	Helium, 1 mL/min	
Injection mode	Splitless mode	
Injection volume	2 μ L	
Inlet temperature	300°C	
Mass spectrometer	Agilent Technologies 7000D	
Ionization	EI	
Interface temperature	320°C	
Ion source temperature	280°C	
	Monitor ion (m/z)	CE
4- <i>tert</i> -butylphenol (4-t-BP)	207>151	10
4- <i>tert</i> -pentylphenol (4-t-PP)	207>179	10
4- <i>n</i> -pentylphenol (4-n-PP)	179>73	15
4- <i>n</i> -hexylphenol (4-n-HexP)	250>179	10
4- <i>tert</i> -octylphenol (4-t-OP)	207>151	15
4- <i>n</i> -heptylphenol (4-n-HepP)	179>73	15
4- <i>n</i> -octylphenol (4-n-OP)	179>73	15
4- <i>n</i> -nonylphenol (4-n-NP)	179>73	15
4- <i>n</i> -nonylphenol- <i>d</i> ₄ (内部標準)	183>73	15
Bisphenol AF (BPAF)	411>73	30
Bisphenol F (BPF)	344>179	20
Bisphenol E (BPE)	343>73	30
Bisphenol A (BPA)	357>191	20
Bisphenol C (BPC)	385>205	20
Bisphenol B (BPB)	357>191	20
Bisphenol G (BPG)	441>73	40
Bisphenol Z (BPZ)	369>203	10
Bisphenol S (BPS)	379>73	30
Bisphenol AP (BPAP)	419>73	40
Bisphenol M (BPM)	475>191	30
Bisphenol P (BPP)	475>460	20
Bisphenol BP (BPBP)	419>73	40
Bisphenol PH (BPPH)	509>73	40
Bisphenol FL (BPFL)	494>329	30
Bisphenol A- <i>d</i> ₁₆ (内部標準)	368>73	35

ぐ目的でホルダーを 2 個連結して行った。すなわち、後段ホルダーの石英フィルターにアセトンで調製した 1000 ng/mL の 23 成分混合標準液を 0.1 mL 添加後、サンプリングポンプ(ASP-6000, 光明理化学工業製)で 4,320 L (3 L/min, 24 時間)吸引した。吸引後のフィルターは別々に 10 mL のガラス製遠沈管に入れ、5 mL のアセトンを加え 20 分間、超音波抽出し、1740 x *g*, 10 分間遠心処理した。遠心後の上清を GC バイアルに 0.5 mL 正確に量り取り、内部標準混合溶液を 10 μ L (1 mg/L の nonylphenol-*d*₄ と BPA-*d*₁₆) と BSTFA を 60 μ L 加え、45°C で 1 時間加温して TMS 化後 GC-MS/MS に供した。

2. 室内空気における APs, BPs の実態調査と吸入曝露量の推定

実態調査は 2023 年 4 月から 6 月にかけて、東京都及び神奈川県の一部の戸建やマンション 20 軒

で実施し、測定地点は、主に居間または寝室の1か所とした。各フィルターは前処理した後、酸化防止剤としてジブチルヒドロキシルエーテル(BHT アセトン溶液, 12.5 µg/mL)0.4 mLをフィルターに万遍なく添加し、溶媒を乾燥させた。室内空気サンプリング用ホルダーは、金属製の密閉容器に入れて測定地点まで運搬した。汚染確認として、トラベルブランク(輸送中の汚染の確認)とディフュージョンブランク(吸引しない状態での汚染確認)の2つを用意した。室内空気のサンプリングは、地上1.0-1.2 mで3 L/min, 24時間吸引した。また、BPsは低濃度であることが想定されたため、抽出液を4倍に濃縮した試料の分析も行った。そして、実態調査で得られた濃度から吸入曝露量を算出した。

【結果と考察】

1. GC-MS/MS を利用した室内空気における APs, BPs 一斉分析法の検討

最初に、APs 及び BPs, 23 成分の TMS 化の最適化を行った。検討の結果、標準品 0.5 mL に対し 10%程度

表2 定量下限値及び検出下限値

Alkylphenols (APs)								
ng/m ³	4-t-BP	4-t-PP	4-n-PP	4-n-HexP	4-t-OP	4-n-HepP	4-n-OP	4-n-NP
定量下限値	0.288	0.263	0.066	0.194	0.121	0.038	0.069	0.083
検出下限値	0.087	0.079	0.020	0.058	0.036	0.011	0.021	0.025
Bisphenols (BPs)								
ng/m ³	BPAF	BPF	BPE	BPA	BPC	BPB	BPG	BPZ
定量下限値	0.238	0.256	0.236	0.299	0.455	0.081	0.104	0.289
検出下限値	0.071	0.077	0.071	0.090	0.136	0.024	0.031	0.087
ng/m ³	BPS	BPAP	BPM	BPP	BPBP	BPPH	BPFL	
定量下限値	0.377	0.067	0.836	1.088	0.178	0.319	0.767	
検出下限値	0.113	0.020	0.251	0.327	0.053	0.096	0.230	

の BSTFA を添加後、45°C で 1 時間加温することで全成分が TMS 化されることを確認した。TMS 化後にキャピラリーカラムにて分離を行ったところ、良好なピーク形状で完全分離を達成した。続いて、最適化した MRM 条件から検量線作成を行い、0.5-200 ng/mL(気中濃度 0.58-231.5 ng/m³)の範囲で良好な直線性が得られた。定量及び検出下限値は、検量線の下限付近の濃度を n=6 で繰り返し分析して得た(表 2)。室内環境中の BPs についてまとめられた総説では、室内空気において最も調査されている BPA で概ね 0.5 ng/m³程度であり⁴⁾、これは本研究の定量下限値でカバーすることが可能である。また、BPA 以外の空気中の存在は明らかにされていないが、実際の調査では抽出液の濃縮を行うことで、低濃度の存在まで捉えることが可能と考えられた。また、APs については、室内空気中に 36.3-47.5 ng/m³程度存在することが報告されている³⁾。今回、本研究で設定した検量線範囲では、APs についても実態調査を行うに妥当な濃度幅と考えられた。

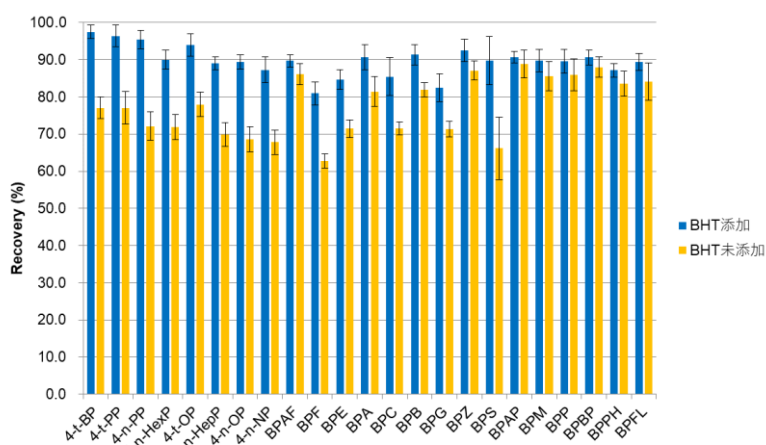


図1. BHT 未添加(n=6)及び BHT 添加フィルター(n=8)による回収率

続いて、フィルターに 23 成分混合標準液を添加して回収試験を行った。その結果、APs は 68-77%, BPs は 62-88%と、全体的に回収率が低い傾向が見られた。そこで、吸引時間の変化による回収率の変動を調査したところ、吸引により多くの成分が 10-35%程度低減する

ことが確認された。フィルターが破過した可能性も考えられたことから、標準品を添加したホルダーを前段に配置し、無添加の後段ホルダーに 23 成分が移行するかを確認した。その結果、破過現象は確認されなかったことから、吸引時における酸化などの構造変化が示唆された。そこで本研究では、ポリマー類の酸化防止剤としても知られる BHT を石英及び C18 フィルターに添加し、構造変化が抑制されるかを添加回収試験にて調査した。その結果、BHT を添加したフィルターは良好な結果を示すことが明らかとなった(図 1)。

2. 室内空気における APs, BPs の実態調査と吸入曝露量の推定

続いて、東京都及び神奈川県の子供やマンション 20 軒で実態調査を試みた。その結果、APs は 8 成分の内、直鎖型の APs は検出されず、分岐型の 4-t-BP, 4-t-PP, 4-t-OP が全住宅で確認された(表 3)。これは 2000 年頃に行われた室内空気の調査とほぼ同様であり¹⁾、当時の濃度と比較して、4-t-BP は減少傾向にあり、4-t-OP は概ね同程度であることが分かった。次に、得られた濃度から吸入曝露量を算出した。各化合物の最大濃度で、大人 50 kg, 呼吸量 15 m³/day, 滞在時間 24 時間として算出したところ、4-t-BP が 20.8 ng/kg/day, 4-t-PP が 35.8 ng/kg/day, 4-t-OP が 5.5 ng/kg/day であった。APs は耐容一日摂取量(TDI)が示されていないため、本研究では、化学物質総合情報検索システム(Nite-Chrip)を利用して無毒性量(NOEL)を調査したところ、吸入曝露の NOEL は示されておらず、暫定的に経口曝露の NOEL に不確実係数 100 を適用して TDI を求めた。その結果、TDI は 4-t-BP で 70 µg/kg/day, 4-t-PP で 700 µg/kg/day, 4-t-OP で 15 µg/kg/day となり、吸入経路からの曝露量は十分に低いと考えられた。

また、BPs は BPA 以外検出されなかった。BPA の類縁物質は、物性として、蒸気圧が BPA と比べ低い化合物が多い⁴⁾。したがって、BPs は気化しにくく、他の準揮発性有機化合物と同様、ハウスダストや床などに吸着する形で存在すると考えられる。ハウスダストにおける BPs を実態調査した最近の報告では、BPA が 90%近くを占め、次いで BPF, BPS の順とされる⁵⁾。BPs がダストなどの微粒子と共に室内空气中に飛散したものとすれば、BPA が優先して検

表3 室内空気中で確認された化合物の濃度 (ng/m³)

Sample	4-t-BP	4-t-PP	4-t-OP	BPA	測定地点
1	5.67	3.01	2.00	0.119	寝室
2	3.99	2.12	4.13	0.0914	居間
3	5.25	4.19	1.01	ND	居間
4	2.32	0.844	1.90	ND	居間
5	5.88	4.76	1.13	0.239	居間
6	4.95	0.198	0.580	0.199	居間
7	6.21	0.584	1.72	ND	居間
8	6.55	1.77	18.3	ND	居間
9	61.8	3.50	3.44	ND	居間
10	8.87	17.1	1.96	0.0868	居間
11	12.2	8.38	3.28	ND	寝室
12	7.88	1.90	7.15	ND	子供部屋
13	36.5	3.60	0.666	ND	居間
14	53.3	1.44	1.78	ND	寝室
15	30.7	3.66	2.73	ND	居間
16	13.0	3.17	1.62	ND	居間
17	69.3	119	2.87	0.201	寝室
18	23.3	6.00	4.57	0.113	居間
19	9.82	0.551	0.968	ND	居間
20	5.61	1.45	1.69	0.576	居間
平均	18.7	9.37	3.18	0.203	
中央値	8.38	3.09	1.93	0.159	
最大	69.3	119	18.3	0.576	
最小	2.32	0.198	0.580	0.0868	

出された点に矛盾はないと考えられた。更に、本調査における BPA 濃度は中央値 0.16 ng/m³(最大 0.58 ng/m³)であった(表 3)。これは斎藤らの調査(中央値 0.35 ng/m³(最大 4.60 ng/m³))より減少傾向を示した³⁾。次に、今回の BPA の最大濃度で APs と同様に吸入曝露量を算出したところ、0.17 ng/kg/day と算出された。2023 年に欧州食品安全機関(EFSA)は、食品中 BPA の経口曝露の TDI を 4 µg/kg/day から 0.2 ng/kg/day に下げることが発表している。したがって、今後も空気及びハウスダスト中の BPA 濃度に注視していく必要がある。

【今後の課題】

本研究では、GC-MS/MS を利用した室内空気における APs, BPs 一斉分析法の構築と室内空気における実態把握に成功したが、幾つかの課題も残された。まず、発生源の一つと考えられるハウスダスト中の APs 及び BPs の濃度情報である。今回の調査で検出されなかった APs と BPs はハウスダストに吸着する形で存在している可能性があり、室内環境中の汚染実態の把握には、ハウスダストにおける実態調査が必要である。また、もう一つの課題として、室内空気のサンプリングが挙げられる。今回、用いたホルダーは 47 mm のフィルターを挿入するタイプのもので嵩張りやすく、ブランク用ホルダーやサンプリングポンプも合わせると測定地点への持ち運びが容易ではなかった。今後、サンプリング器材の小スケール化も課題の一つとなるだろう。

室内環境は我々の身近な領域であるにも関わらず、プライバシーの問題から化学物質の実態調査が難しく、不明瞭な部分が多いと考えられる。今後も室内環境における様々な化学物質の調査を行い、存在実態を明らかにしていく予定である。

【参考文献】

- 1) Gregory et al., *J. Agric. Food Chem.*, 59, 7178-7185 (2011).
- 2) Wan et al., *Chemosphere* 199, 595-602 (2018).
- 3) 斎藤ら, *Ann. Rep. Tokyo Metr. Inst. Pub. Health* 59, 27-38 (2008).
- 4) Vasiljevic et al., *Sci. Total Environ.*, 789, 148013 (2021).
- 5) Zhu et al., *Sci. Total Environ.*, 54, 11333 (2020).

【経費使途明細】

使 途	金 額
石英フィルター	35,640 円
JIS 試験用粉体 15 種	72,050 円
ミニふるい浸とう機 MVS-1N	80,300 円
ステンレスふるい	5,720 円
GC カラム	98,175 円
分析用試薬類	4,224 円
振込手数料	4,235 円
合 計	300,344 円
大同生命厚生事業団助成金	300,000 円